مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و نهم/شماره ۱۲۷/هفته سوم فروردین ماه ۱۳۹۰

مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۳۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۲/۱۹

مقایسه‌ی فراوانی نسبی ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) با استفاده از روش ایمنوهیستوشیمیایی (IHC) در بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم و هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات

دکتر مژگان مختاری[۱]، دکتر فائقه تقی‌زاده[۲]، دکتر اسماعیل روزبهانی[۳]، تهمینه نریمانی[۴]

خلاصه

مقدمه: آدنوکارسینوم پروستات شایع‌ترین سرطان در مردان و دومین علت مرگ ناشی از سرطان است. به تازگی عوامل خطرساز متعددی مانند وجود HPV (Human papillomavirus) در بافت پروستات در همراهی با هیپرپلازی خوش خیم پروستات (BPH یا Benign Prostatic Hyperplasia) و آدنوکارسینوم مورد توجه قرار گرفته است. هدف ما مقایسه‌ی مثبت شدن HPV در بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم و هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات بود.

روش‌ها: ۱۲۰ بیمار که ۹۰ مورد مبتلا به هیپرپلازی خوش‌خیم و ۳۰ مورد مبتلا به آدنوکارسینوم پروستات بودند، از نظر وجود HPV با استفاده از روش IHC مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: از ۱۲۰ مورد تنها ۴ مورد HPV یافت شد که ۳ مورد در بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم و یک مورد در بیماران مبتلا به BPH بود. میانگین سنی بیماران در گروه HPV مثبت ۶۱/۷۵ سال و منفی ۶۸/۵۱ سال بود که این رابطه معنی‌دار نبود میانگین سنی بیماران ۶۸ سال بود. با $P = ۰/۰۴۸$ بین وجود HPV و بروز سرطان رابطه‌ی معنی‌دار وجود داشت. عامل خطرساز (OR) برای این که در بیوپسی بعدی پروستات BPH باشد ۳/۰۶۹ و برای آدنوکارسینوم ۰/۳۱ بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به مثبت شدن حدود ۳/۳ درصد بیماران با HPV و با توجه به نتایج قبلی به نظر می‌رسد که عفونت HPV در سیستم تناسلی، یک یافته‌ی اتفاقی نیست و پروستات به عنوان یک مخزن عفونت عمل می‌کند و آلودگی با این ویروس می‌تواند یک عامل خطر برای هیپرپلازی و حتی تبدیل به بدخیمی در سلول‌های مخاطی سیستم تناسلی شود. توصیه می‌شود در هر بیمار با بیوپسی پروستات از نظر HPV بررسی شود تا با درمان و پیش‌گیری از انتشار بیشتر بیماری شاید از عوارض بعدی بکاهیم.

واژگان کلیدی: پروستات، ویروس پاپیلومای انسانی (HPV)، هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات، آدنوکارسینوم پروستات.

مقدمه

آدنوکارسینوم پروستات شایع‌ترین سرطان در مردان و دومین علت عمده‌ی مرگ ناشی از سرطان می‌باشد (۱). عوامل خطرساز متعددی مانند سن، نژاد، سابقه‌ی فامیلی و ... به تازگی هم ویروس پاپلومای انسانی (HPV یا Human papillomavirus) در همراهی با آدنوکارسینوم و هیپرتروفی خوش‌خیم پروستات (BPH یا Benign Prostatic Hyperplasia) مورد توجه قرار گرفته است که بهترین روش بررسی آن ایمنوهیستوشیمیایی (IHC) می‌باشد (۲).

HPV از خانواده‌ی پاپوا ویروس‌ها است که سرطان‌زایی آن در انسان به اثبات رسیده است که این خاصیت مربوط به دو پروتئین خاص آن می‌باشد که توسط ژن‌های E6 و E7 کد می‌شوند. این پروتئین‌ها مانع از فعال شدن پروتئین‌های کد شده از دو ژن سرکوب‌گر تومور یعنی Rb و PS3 که در سلول‌های

[۱] دانشیار، گروه پاتولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۲] متخصص پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۳] متخصص ارتوپدی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۴] کارشناس ارشد، گروه میکروب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
نویسنده‌ی مسؤول: تهمینه نریمانی
Email: narimani@med.mui.ac.ir

www.mui.ac.ir

طبیعی یافت می‌شوند، می‌گردند (۳).

روش IHC چون به صورت مستقیم آنتی ژن‌های اختصاصی ویروس را مشخص می‌کند، از ویژگی و حساسیت بالایی برخوردار است و هزینه‌ای برابر یک سوم PCR دارد (۴).

در یک مطالعه در فلورانس ایتالیا توسط Carozzi و همکاران ویروس HPV در ۶۵/۳ درصد از موارد سرطان پروستات و ۴۸ درصد موارد هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات یافت شده است (۵).

در یک مطالعه در آرژانتین توسط Leiros و همکاران، ویروس HPV در ۴۱/۵ درصد از موارد کارسینوم یافت شد در حالی که در ۳۰ نمونه‌ی هیپرپلازی خوش‌خیم یافت نشد (۶).

در یک مطالعه‌ی دیگر در ایتالیا که توسط Gherdovich و همکاران، ویروس HPV در ۶۰ مورد از بیماران مبتلا به هیپرپلازی خوش‌خیم و ۵ مورد در سرطان پروستات یافت شد (۷).

در یک مطالعه در ژاپن توسط Noda و همکاران، در ۳ مورد از ۷۱ نمونه، هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات و در ۳۸ مورد مبتلا به کارسینوم پروستات HPV مشاهده شده است (۸).

در یک مطالعه در کانادا توسط McNicol و همکار، در ۷ مورد از ۱۶ نمونه‌ای که شامل هر دو بافت کارسینوم و هیپرپلازی خوش‌خیم بود، HPV یافت شده است (۹).

در ضمن غده‌ی پروستات می‌تواند به HPV مبتلا به عنوان مخزنی برای انتقال جنسی ویروس پاپیلومای انسانی از طریق سمینال عمل کند (۱۰).

این نتایج بیانگر این است که وجود HPV در بعضی بافت‌ها به طور اتفاقی نیست و عفونت مخاط‌های به خصوصی مثل سیستم اروژینتال خانم‌ها، پنیس مردان می‌تواند منجر به پرولیفراسیون و حتی تبدیل به بدخیمی شود (۱۱).

در یک مطالعه در آمریکا که توسط Allsbrook انجام شد، حدود ۶۰ درصد بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم و ۴۰ درصد موارد هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات، آلوده به ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) بودند (۱۰).

روش‌ها

این مطالعه از نوع مقطعی- تحلیلی بود و جمعیت مورد مطالعه متشکل از بلوک‌های پارافینی مربوط به آدنوکارسینوم پروستات و بلوک‌های مربوط به هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات در بیمارستان الزهرا (س) و کاشانی اصفهان در فاصله‌ی سال‌های ۸۵-۱۳۸۰ بود.

معیارهای ورود به مطالعه شامل بلوک‌هایی از آدنوکارسینوم و هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات بود که اطلاعات کاملی را از نظر سن و گرید هیستوپاتولوژیک دارا باشند و معیارهای خروج از مطالعه بلوک‌های فاقد اطلاعات کافی بود.

نمونه‌گیری به صورت آسان و حجم نمونه‌ی به دست آمده در مجموع ۱۲۰ نفر بود؛ یعنی تعداد ۳۰ عدد بلوک مربوط به آدنوکارسینوم پروستات و ۹۰ عدد بلوک مربوط به هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات بود.

حجم نمونه‌ی مورد نیاز بر اساس ۵٪ = α و پیش فرض فراوانی ویروس پاپیلومای انسانی در دو گروه به ترتیب ۲۰ و ۵۰ درصد با استفاده از فرمول مقایسه‌ی نسبت‌ها و با توجه به نسبت گروه شاهد به مورد برابر ۳ در مجموع ۱۲۰ نفر که شامل ۳۰ مورد آدنوکارسینوم و ۹۰ مورد هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات بود، محاسبه گردید. سپس نتایج توسط نرم‌افزار SPSS (SPSS, Inc., Shicago, IL) و

www.mui.ac.ir

شاخص‌های آماری درصد فراوانی، میانگین، انحراف معیار و آزمون χ^2 استفاده و جهت تعیین شدت ارتباط از شاخص Odds ratio استفاده شد.

این نمونه‌ها به آزمایشگاه پاتولوژی برده و مراحل زیر به ترتیب روی آن‌ها انجام شد. برش‌هایی به ضخامت ۴-۳ میکرون از بلوک‌ها تهیه گردید و از برش‌های مزبور لام تهیه شد. لام‌ها به مدت ۴۵ دقیقه داخل فر ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و سپس ۱۰ دقیقه داخل گزیلول و ۱۰ دقیقه در الکل ۱۰۰ درجه و در نهایت ۶ دقیقه در الکل ۹۶ درجه قرار داده شد. در این مرحله، لام‌ها را در داخل بافری با PH = ۶ قرار داده، در مایکروویو گذاشته شد و بعد از گذشت ۱۵ دقیقه در دمای محیط (در PH = ۶) لام‌ها را به بافر PH = ۷/۲ منتقل نموده و رنگ آمیزی شروع شد.

۱. آب اکسیژنه ۵ دقیقه- شستشو در بافر ۷/۲
۲. آنتی‌بادی اولیه ۱۰ دقیقه- شستشو در بافر ۷/۲
۳. آنتی‌بادی ثانویه (Link) ۱۰ دقیقه- شستشو در بافر ۷/۲
۴. Stereptavidin ۱۰ دقیقه- شستشو در بافر ۷/۲
۵. دی آمینوبنزوئیک (DAB) ۵ دقیقه- شستشو در آب مقطر- شستشو در بافر ۷/۲
۶. هماتوکسیلین ۳۰ دقیقه- شستشو
۷. آب آمونیاک ۱۰ ثانیه- شستشو در آب مقطر- شستشو در بافر ۷/۲
۸. خشک کردن لام‌ها و سپس مونت کردن آن‌ها

سپس لام‌های رنگ شده از نظر مثبت یا منفی بودن رنگ پذیری بررسی شدند که موارد مثبت با رنگ گرفتن هسته‌ی سلول‌های آلوده و گاهی سیتوپلاسم سلول‌های کوئلوسیت مشخص می‌شد. کلیه‌ی اطلاعات به دست آمده در فرم مخصوص جمع آوری اطلاعات طرح تحقیقاتی که شامل اطلاعات دموگرافیک میکروسکوپی و ایمونوهیستوشیمی بود، ثبت گردید.

یافته‌ها

از ۱۲۰ مورد ۴ مورد HPV یافت شدکه ۳ مورد در بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم و یک مورد در بیماران مبتلا به پروستات هیپرپلازی خوش‌خیم (BPH) بود که به روش IHC مورد شناسایی قرار گرفتند.

میانگین سنی بیماران در گروه HPV مثبت ۶۱/۷۵ سال و HPV منفی ۶۸/۵۱ سال بود که این رابطه معنی‌دار نبود. میانگین سنی بیماران ۶۸ سال بود.

با P = ۰/۰۴۸ بین وجود HPV در نمونه‌های بررسی شده و نوع تشخیص بیماری با آدنوکارسینوم یا هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات ارتباط معنی‌داری وجود داشت. عامل خطرساز (OR) برای این که در بیوپسی پروستات هیپرپلازی خوش‌خیم باشد، ۳/۰۶۹ و برای پروستات آدنوکارسینوم ۰/۳۱ بود.

در بیوپسی انجام شده از بیماران مراجعه کننده، فراوانی بیماری هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات ۹۰ نفر (۷۵ درصد) و فراوانی آدنوکارسینوم پروستات ۳۰ نفر (۲۵ نفر) نشان داده شد.

فراوانی HPV منفی در نمونه‌ها ۱۱۶ مورد (۹۶/۷ درصد) و فراوانی HPV مثبت ۴ مورد (۳/۳ درصد) بود.

فراوانی HPV منفی در هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات ۸۹ مورد و در آدنوکارسینوم ۲۷ مورد بود؛ فراوانی HPV مثبت نیز در هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات ۱ مورد و در آدنوکارسینوم ۳ مورد گزارش شد.

بحث

سرطان پروستات شایع‌ترین بدخیمی داخلی در بین مردان در ایالات متحده است و مسؤول ۱۰ درصد موارد مرگ در این جمعیت می‌باشد. هر ساله در ایالات نیویورک در بیشتر از ۱۱ هزار مورد سرطان پروستات تشخیص داده می‌شود و بیش از ۲۳۰۰ نفر به دلیل ابتلای به آن می‌میرند.

www.mui.ac.ir

سرطان پروستات علت عمده‌ی سرطان جدید در مردان و دومین دلیل عمده‌ی مرگ در ارتباط با سرطان، بعد از سرطان ریه می‌باشد. میزان بروز آن در میان مردان سیاه پوست یک و نیم برابر مردان سفید پوست می‌باشد. اغلب ۷۵ درصد مردان که تشخیص کارسینوم پرستات در آن‌ها داده می‌شود داری سن ۶۵ سال یا بیشتر می‌باشند، ولی در مردان جوان‌تر و همچنین در بچه‌ها و نوجوانان نیز دیده شده است. فرکانس ایجاد آن با افزایش سن بالا می‌رود، واقعیتی که با مطالعات دقیق روی اتوپسی اثبات شده است. بیشتر از ۹۰ درصد بیمارانی که درمانی صحیح شده‌اند انتظار می‌رود که بیشتر از ۱۵سال زنده بمانند. از جمله علت‌های فراوانی که برای ایجاد این سرطان ذکر شده است می‌توان به ویروس پاپیلوماتوز انسانی (HPV) اشاره کرد که در تحقیقات متعدد انجام گرفته در سرتاسر دنیا مورد توجه قرارگرفته است (۹-۷).

از طرفی سرطان‌زایی HPV در انسان به اثبات رسیده است که از جمله ایجاد سرطان در سرویکس آلت تناسلی مردان می‌باشد (۸).

IHC یک روش عالی است که به طور مستقیم آنتی‌ژن‌های اختصاصی ویروس را مشخص می‌کند که از حساسیت و ویژگی بالایی بر خوردار است.

به تازگی در مطالعات متعددی سعی در بیان رابطه‌ی بین مثبت شدن HPV در بیماران مبتلا به هیپرپلازی خوش‌خیم و آدنوکارسینوم پروستات شده است. در مطالعه‌ی Wideroff و همکاران حدود ۶۵/۳ درصد موارد، سرطان پروستات و ۴۸ درصد موارد، بیماران مبتلا به هیپرپلازی خوش‌خیم پروستات ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) مثبت بوده است (۳).

در مطالعه‌ی ما بر روی ۱۲۰ بیمار که ۹۰ نفر مبتلا به هیپرپلازی خوش‌خیم و ۳۰ نفر مبتلا به آدنوکارسینوم پروستات بودند، تنها در یک مورد از بیماران مبتلا به BPH و ۳ مورد از بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم HPV مثبت شد و در رنگ آمیزی با IHC رنگ گرفت. با آنالیز آماری مشخص شد که بین بروز آدنوکارسینوم و وجود ویروس پاپیلومای انسانی (HPV) رابطه‌ی معنی دار وجود دارد. پس می‌توان گفت که همان طور که بین بروز سرطان و وجود HPV در مجرای تناسلی زنان و مردان رابطه کشف و ثابت شده است، بین بروز سرطان پروستات و وجود HPV می‌تواند رابطه باشد و یک عامل خطرساز باشد.

در مطالعات دیگر در جاهای مختلف دنیا نتایج گوناگونی به دست آمده است. در مطالعه‌ای در هیچ کدام از بیماران مبتلا به BPH و آدنوکارسینوم، HPV یافت نشده است و در مطالعه‌ی دیگری در ۶۰ درصد موارد بیماران با تشخیص BPH و ۶۵/۳ درصد بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم پروستات، HPV یافت شده است (۳).

غده‌ی پروستات به عنوان مخزنی برای انتقال جنسی ویروس پاپیلومای انسانی از طریق مایع سمینال وزیکول عمل می‌کند (۸). پس در کل می‌توان گفت که وجود HPV در بعضی بافت‌ها مانند سیستم تناسلی زنان و مردان یک یافته‌ی اتفاقی نیست و عفونت مخاط سیستم تناسلی می‌تواند منجر به پرولیفراسیون سلول‌های مخاطی و حتی تبدیل به بدخیمی شود (۹-۸).

با توجه به سرطان پروستات در مردان و وجود روش تشخیصی سریع و قابل اعتماد IHC، توصیه می‌شود در کلیه‌ی بیماران بیوپسی پروستات از نظر HPV به روش IHC بررسی شود تا در صورت مثبت بودن، روش‌های درمانی و به خصوص پیش‌گیری از

www.mui.ac.ir

انتشار بیماری از طریق جنسی کاهش یابد. استفاده از داروهای جدید ضد ویروس برای درمان، روش‌های غربالگری و تشخیص زود هنگام و پس از آن از میزان و شدت آدنوکارنیوم پروستات بکاهد.

References

1. Rosai J. Surgical Pathology. 9th ed. London: Mosby; 2004.
2. Kumar V, Fausto N, Abbas A. Robbins and Cotran. Pathologic Basic of Disease. 7th ed. Philadelphia: WB. Saunders; 2004.
3. Wideroff L, Schottenfeld D, Carey TE, Beals T, Fu G, Sakr W, et al. Human papillomavirus DNA in malignant and hyperplastic prostate tissue of black and white males. Prostate 1996; 28(2): 117-23.
4. Howat AJ, Mills PM, Lyons TJ, Stephenson TJ. Absence of S-100 protein in prostatic glands. Histopathology 1988; 13(4): 468-70.
5. Carozzi F, Lombardi FC, Zendron P, Confortini M, Sani C, Bisanzi S, et al. Association of human papillomavirus with prostate cancer: analysis of a consecutive series of prostate biopsies. Int J Biol Markers 2004; 19(4): 257-61.
6. Leiros GJ, Galliano SR, Sember ME, Kahn T, Schwarz E, Eiguchi K. Detection of human papillomavirus DNA and p53 codon 72 polymorphism in prostate carcinomas of patients from Argentina. BMC Urol 2005; 5: 15.
7. Gherdovich S, Barbacci P, Mitrione MP, Farina U, Muraro GB, Anichini M. Detection of the human papillomavirus in hyperplastic and cancerous prostatic tissue with PCR. Minerva Urol Nefrol 1997; 49(2): 73-7.
8. Noda T, Sasagawa T, Dong Y, Fuse H, Namiki M, Inoue M. Detection of human papillomavirus (HPV) DNA in archival specimens of benign prostatic hyperplasia and prostatic cancer using a highly sensitive nested PCR method. Urol Res 1998; 26(3): 165-9.
9. McNicol PJ, Dodd JG. Detection of papillomavirus DNA in human prostatic tissue by Southern blot analysis. Can J Microbiol 1990; 36(5): 359-62.
10. Allsbrook WC, Jr., Simms WW. Histochemistry of the prostate. Hum Pathol 1992; 23(3): 297-305.
11. Howley PM, lowy DR. Papillomavirus. In: Knipe PM, Howley PM, editors. Fields Virology. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2006. p. 2238-67.

www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29, No 127, 3rd week, April 2011 Received: 8.10.2010 Accepted: 14.3.2011

Comparison of Relative Frequency of Human Papillomatous Virus by Using of Immiunohistochemistry Method between Patients with Prostatic Adenocarcinoma or Benign Prostatic Hyperplasia

Mojgan Mokhtari MD[1], Faegheh Taghizadeh MD[2], Esmaeil Rouzbahani MD[3], Tahmineh Narimani MSc[4]

Abstract

Background: Prostatic Adenocarcinoma is the most prevalent cancer in men and cause of death in them. Many risk factors have been recognized like as Human Papillomatous Virus (HPV) which could be detected better by immiunohistochemistry (IHC) method. Our aim was comparing the relative frequency of HPV in patients with adenocarcinoma or benign prostatic hyperplasia (BPH).

Methods: In this study, presence of HPV in 120 cases (90 with BPH and 30 with adenocarcinoma) was detected by IHC.

Findings: As a whole, 4 patients (3 in adenocarcinoma and 1 in BPH group) were HPV positive (detected by IHC method). The mean age was in 61.75 and 68.51 years in HPV positive and HPV negative groups, respectively. Correlation between age and HPV was not significant. Correlation between HPV and adenocarcinoma was meaningful (P = 0.048).

Conclusion: In this study, 3.3% of patients were HPV positive. HPV is a risk factor for prostat hyperplasia and also its conversion to malignancy. HPV infections shold be diagnosed and treated in early stages to reduce prevalence of adenocarcinoma and other complications.

Keywords: Prostate, Human papillomatous virus, Benign prostatic hyperplasia, Adenocarcinoma.

[1] Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[2] Pathologist, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[3] Orthopedic Surgeon, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[4] Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Corresponding Author: Tahmineh Narimani MSc, Email: narimani@med.mui.ac.ir

www.mui.ac.ir